

**БЕЗЪЯЗЫЧНАЯ АНТОНИНА АЛЕКСАНДРОВНА**

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИК АНАЛИЗА НЕКОТОРЫХ ЦЕФАЛОСПОРИНОВ В  
ТРАДИЦИОННЫХ И ИММОБИЛИЗОВАННЫХ ФОРМАХ И  
БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ**

14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Научный руководитель:**

доктор фармацевтических наук, профессор **Шорманов Владимир Камбулатович**

**Научный консультант:**

доктор биологических наук, профессор **Сипливая Любовь Евгеньевна**

**Официальные оппоненты:**

**Калёкин Роман Анатольевич** – доктор фармацевтических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Министерства здравоохранения Российской Федерации главный научный сотрудник

**Сливкин Алексей Иванович** – доктор фармацевтических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет», кафедра фармацевтической химии и фармацевтической технологии, заведующий кафедрой, декан фармацевтического факультета

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, г. Москва.

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 г. в \_\_\_ часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.040.09 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119019, г. Москва, Никитский бульвар, д. 13.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной медицинской библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д. 37/1, и на сайте организации <http://.sechenov.ru/>.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г.

Ученый секретарь

Диссертационного Совета Д 208.040.09

доктор фармацевтических наук, профессор

Демина Наталья Борисовна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Антибиотики из класса цефалоспоринов III и IV поколений находят распространенное использование в современной медицинской практике для лечения широкого спектра заболеваний. Среди них представляют интерес: цефтриаксон – [6R-6-альфа, 7бета(Z)-7-2-амино-4-тиазолил (метоксиимино) ацетил амино-8-оксо-3-(1,2,5,6-тетрагидро-2-метил-5,6-диоксо-1,2,4-триазин-3-ил)тиометил-5-тиа-1-азабицикло 4.2.0 окт-2-ен-2-карбоновая кислота (в виде динатриевой соли)], цефпиром – [6R-6-альфа, 7бета(Z)-1-7-2-амино-4-тиазолил (метоксиимино) ацетил амино-2-карбоксо -8-оксо-5-тиа-1-азабицикло [4.2.0]окт-2-ен-3-ил]метил]-6,7-дигидро-5Н-1-пиридиния гидроксид (внутренняя соль), и цефепим – 1-[[7-[[2-Амино-4-тиазолил (метоксиимино) ацетил амино -2-карбоксо-8-оксо-5-тиа-1-азабицикло 4.2.0 окт-2-ен-3-ил]метил]-1-метилпирролидиния гидроксид (внутренняя соль), которые являются антибиотиками широкого спектра действия.

Однако известны данные о летальных исходах при лечении вышеперечисленными лекарственными препаратами при повышенной чувствительности к ним, а также на фоне ряда заболеваний печени и почек.

Цефтриаксон, цефпиром и цефепим проявляют токсическое действие в отношении теплокровных организмов. При введении в виде внутривенных инъекций LD<sub>50</sub> для крыс при применении цефтриаксона составляет 2 г/кг, цефпирома 1,9 г/кг и цефепима 1,2 г/кг. Известны случаи летального исхода при поступлении в организм человека цефтриаксона.

На сегодня актуально создание новых, менее токсичных и более эффективных систем доставки, в состав которых входят вещества из данной группы. Для снижения токсического воздействия и улучшения терапевтического эффекта цефалоспоринов возможно использование новых систем доставки данных антибиотиков к органам-мишеням. Для этой цели могут служить клеточные носители, в частности, эритроциты.

Использование новых систем доставки обуславливает необходимость разработки и валидации методик определения цефтриаксона, цефепима и цефпирома в традиционных и иммобилизованных формах, а также в биологических объектах.

Вышеуказанные данные позволяют сделать вывод о том, что разработка и валидация методик анализа исследуемых лекарственных препаратов, а также создание иммобилизованных форм с применением клеточных носителей является современной и актуальной темой.

**Степень разработки темы исследования.** На сегодня нераскрытыми в нужном объеме остаются моменты извлечения выбранных препаратов из биообъектов, их идентификация и количественная оценка. Описанные методики экспертизы изучаемых препаратов недостаточно избирательны и чувствительны. В современных литературных источниках нет информации о сохранности анализируемых антибактериальных препаратов в материале биологического происхождения, а также информации о целесообразности применения направленного транспорта антибиотиков цефалоспоринового ряда с использованием эритроцитов в качестве клеточных носителей.

**Цель исследования.** Целью данного диссертационного труда является разработка методик анализа цефтриаксона, цефепима и цефпиромы при различных системах доставки в организм и биологических объектах.

**Задачи исследования.** Были обозначены задачи данного исследования, необходимые для достижения цели:

1) провести оценку спектральных характеристик цефтриаксона, цефепима и цефпиромы в различных растворителях;

2) изучить подвижность анализируемых лекарственных препаратов с применением хроматографических методов с использованием сорбента в тонких слоях и хроматографических макроколонках;

3) предложить актуализированную методику идентификации и количественного определения анализируемых лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и провести процедуру валидации;

4) проанализировать специфику изолирования цефтриаксона, цефепима и цефпиромы изолирующими агентами различной элюентной активности из объектов биологического происхождения, разработать процедуру очищения вытяжек;

5) проработать особенности включения выбранных цефалоспоринов в матрицы биологической природы и создать процедуру определения количественного содержания антибиотиков, иммобилизованных в эритроцитарные носители;

6) выявить особенности распределения антибиотиков цефалоспоринового ряда в организмах как у здоровых лабораторных животных, так и с токсическим поражением мочевыделительной системы, при условии использования разнообразных систем доставки;

7) определить временную продолжительность сохранения цефалоспориновых антибиотиков в материале биологического происхождения в условиях гнилостного разложения.

**Научная новизна.** Впервые рассмотрены и выявлены особенности в электронных и колебательных спектрах цефтриаксона, цефепима и цефпиромы и разработаны методики их идентификации.

Впервые изучена подвижность анализируемых лекарственных препаратов в различных системах растворения в тонкослойной с гидроксильной и привитой поверхностями и в макроколочной хроматографии при применении разнообразных мобильных фаз.

Подобраны оптимальные условия для проведения процедуры включения цефалоспориновых антибиотиков в эритроцитарные носители.

Впервые была разработана и апробирована схема химико-токсикологического анализа для отдельных представителей из группы цефалоспориновых антибиотиков при различных технологиях их введения (свободные или клеточные формы препаратов).

Впервые проанализировано и практически проведено изучение распределения цефтриаксона, цефепима и цефпиромы в организме теплокровных животных при традиционных и иммобилизованных формах введения как здоровым, так и мышам с моделированным токсическим поражением почек.

Изучен способ изолирования и очищения получаемых вытяжек из материала биологической природы.

Изучена продолжительность сохраняемости исследуемых веществ в разлагающихся объектах биологического происхождения при разном температурном и временном интервале сохраняемости.

**Теоретическая и практическая значимость исследования.** Результаты разработанных методик анализа лекарственных препаратов из группы цефалоспоринов в традиционных и иммобилизованных формах и биологических объектах позволяют улучшить понимание о важности химических и физико-химических свойств исследуемых лекарственных препаратов.

Практическая значимость заключается в возможности введения выбранных цефалоспориновых препаратов, иммобилизованных в клеточные носители, позволит снизить риск развития нежелательных аллергических реакций и повысить

терапевтическую эффективность. Разработанные методики идентификации и количественного определения цефтриаксона, цефепима и цефпирона позволяют внедрить и использовать их в работе судебно-химических и аналитических лабораторий.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. специфика спектров поглощения выбранных для анализа веществ в УФ- и ИК-областях спектров;
2. особенности поведения хроматографической активности исследуемых лекарственных препаратов при изучении в тонких слоях и в макроколоне;
3. аналитические методы подтверждения и определения процентного содержания действующих веществ с использованием спектрофотометрических, хроматографических методик анализа;
4. специфика проведения процедуры очищения анализируемых веществ из объектов биологического происхождения;
5. проведение процедуры валидации предложенной методики анализа процентного содержания определяемых препаратов, извлеченных из материала биологической структуры;
6. распределение выбранных лекарственных препаратов по организму здоровых и с моделированным токсическим поражением почек теплокровных животных в свободном и в виде включения в эритроцитарные носители;
7. продолжительность сохранности некоторых антибактериальных препаратов из группы цефалоспоринов в разных температурных режимах хранения.

**Методология и методы исследования.** Методологической основой данного труда явились фармакопейные статьи предприятий-производителей и научные исследования современных ученых нашей страны [В.К. Шорманова, Л.Е. Сиплиной, А.В. Кукуреки, Г.В. Сипливого].

В настоящем научном труде были применимы различные методы анализа. В частности, методы анализа из группы физико-химических (спектроскопия в УФ и ИК-областях спектра, ВЭЖХ, обращеннофазовая макроколоночная жидкостная хроматография под воздействием низкого давления, ТСХ с применением нормальнофазового и обращеннофазового сорбентов).

**Степень достоверности научных положений и выводов.** Подлинность обретенных результатов диссертационного труда определена применением актуальных и

высокоэффективных методик исследования. Большая часть обретенных результатов представлена в виде табличных и графических данных. Для доказательства подлинности предложенных методик процентного определения антибактериальных препаратов цефалоспоринового ряда проводилась процедура валидация, полученные результаты исследовании статистически обрабатывались в соответствии с требованием ГФ XIII и XIV издания, процесс обработки данных производили с применением прикладных программ «Microsoft Excel 2013».

**Апробация результатов исследования.** Значимые результаты диссертационного исследования освещены на X юбилейной международной научно-практической конференции молодых ученых-медиков, Курск (февраль 2016 г.), на IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биотехнология и биомедицинская инженерия», Курск (2016 г.), на X Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 25-летию биотехнологического факультета и 20-летию кафедры биологической и химической технологии «Биотехнология и биомедицинская инженерия», Курск (ноябрь 2017 г.), на 82-ой Всероссийской научной конференции студентов и молодых учёных с международным участием «Молодёжная наука и современность», Курск (апрель 2017 г.), на международной научно-практической конференции «Новшества в медицине и фармакологии», Тюмень (декабрь 2017 г.), на 7-ой Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2018», Воронеж (март 2018 г.), на 83-ей Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Молодежная наука и современность», Курск (апрель 2018 г.).

**Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук.** Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научной работы федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и является фрагментом выполняемых в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации исследований по теме: «Исследование возможности разработки методик анализа цефалоспориновых антибиотиков в судебно-химическом отношении» (номер государственной регистрации 4А-А17-117013060070-4).

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Диссертационная работа является прикладным исследованием для решения задач судебно-химического анализа. Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки). Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 3 и 4 из паспорта специальности.

**Личный вклад автора.** Научные данные, представленные в данной диссертационной работе Безъязычной А.А., были получены лично автором на базе Курского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора. Автором было выбрано научное направления, выполнена основная часть практических исследований. Во всех работах, опубликованных с соавторами, автор производил постановку целей и задач, доказательство выбора оптимальных путей их решения, планирование и ход проведения эксперимента, обработку полученных результатов, формулировку общих выводов, апробацию и внедрение полученных экспериментальных данных настоящего диссертационного труда.

**Внедрение результатов исследования.** Были внедрены и апробированы итоги этого диссертационного труда:

- Методика идентификации цефтриаксона сочетанием методов хроматографии в тонком слое гидроксилированного сорбента и электронной спектрофотометрии и методика определения цефтриаксона, цефепима и цефпиромы в лекарственных формах методом обращеннофазовой ВЭЖХ внедрены и апробированы в работе Курского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора (акты внедрения № 1, 2 от 25.09.2019 г.).

- Методика химико-токсикологического определения цефтриаксона, цефепима и цефпиромы в тканях органов и биологических жидкостях при проведении судебно-химического исследования внедрена и апробирована в работе ОБУЗ «Бюро СМЭ» Курской области (акт внедрения № 44 от 27.09.2019 г.).

- Валидация методики количественного определения цефтриаксона, цефепима и цефпиромы, извлеченного из биологического материала, методом обращеннофазовой ВЭЖХ и методика количественного определения цефтриаксона, цефепима и цефпиромы, извлеченного из биологического материала, методом обращеннофазовой ВЭЖХ внедрены и апробированы в работе ООО Испытательного центра «ФАРМОБОРОНА» (акты внедрения № 10, 11 от 03.10.2019 г.).



- Методика количественного определения цефепима и цефпиром в лекарственных формах методом электронной спектрофотометрии и методика идентификации цефтриаксона в лекарственных формах методами ТСХ и электронной спектрофотометрии и внедрены и апробированы в научной работе на кафедре фармацевтической химии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО ВГМУ имени Н.Н. Бурденко Минздрава России (акты внедрения № 4, 5 от 01.10.2019 г.).

- Методика изолирования цефтриаксона, цефепима и цефпиром из биожидкостей и определения методами ТСХ и УФ-спектрофотометрии и методика изучения сохраняемости некоторых цефалоспориновых антибиотиков в биологическом материале при различных температурных режимах внедрены и апробированы в учебной (практические занятия) и научной работе на кафедре фармацевтической, токсикологической и аналитической химии ФГБУ ВО КГМУ Минздрава России (акты внедрения № 14, 15 от 02.10.2019 г.).

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 149 страницах машинописного текста, и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 7 глав собственного исследования, общих выводов, списка литературы из 179 источников, (137 из которых зарубежные), списка используемых сокращений и приложения. Работа иллюстрирована 31 рисунками и включает 23 таблицы.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ, в том числе 8 статей, из которых 3 в журналах, входящих в список ВАК.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

В работе использованы: цефтриаксон, субстанция-порошок для приготовления растворов для внутривенного и внутримышечного введения, производитель РУП «Белмедпрепараты», Республика Беларусь; цефепим, субстанция-порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения, производитель ЗАО «МАКИЗ-ФАРМА», Россия; цефпиром, полуфабрикат-порошок стерильный для приготовления стерильных лекарственных форм, производитель ЭнСиПиСи Орхид Фармасаутикал Ко., Лтд., Китай.

Применены методы ТСХ, макроколоночной (препаративной) хроматографии низкого давления, ВЭЖХ, электронной и ИК-спектрофотометрии. Методики определения разработаны на модельных смесях с известным содержанием определяемого вещества.

Результаты обрабатывались в соответствии с установленными требованиями с использованием пакета прикладных программ «Microsoft Excel».

### Результаты исследования

**Спектральные характеристики исследуемых цефалоспоринов.** Изучено поглощение исследуемыми соединениями электромагнитного излучения в УФ-диапазоне. Спектры регистрировались в диметилсульфоксиде, метаноле, 5% растворе глюкозы (для инъекций), воде, 0,1 М растворах хлороводородной кислоты и гидроксида натрия, в изотоническом растворе натрия хлорида, а также в смесях ацетонитрил-вода (8:2), диоксан-вода (8:2), диметилсульфоксид-вода (5:5).

По данным изучения электронных спектров разработаны методики количественного анализа исследуемых веществ по поглощению в смеси диметилсульфоксид-вода (5:5) (табл. 1).

Изучено поглощение исследуемыми соединениями электромагнитного излучения в ИК-диапазоне (4000-400  $\text{см}^{-1}$ ). Установлено присутствие достаточного количества характеристических полос колебаний различных фрагментов молекул анализируемых веществ. Общими являются валентные колебания  $\text{C}=\text{O}$  в интервале частот 1796,3 – 1645,5  $\text{см}^{-1}$ , деформационные колебания  $\text{N}-\text{H}$  (1570,1 – 1500,4  $\text{см}^{-1}$ ), колебания  $\text{CO}_2$  (2361,6 – 2249,4  $\text{см}^{-1}$ ), а также колебания вторичной аминогруппы (1285,8 – 1268,7  $\text{см}^{-1}$ ).

Для цефпиром и цефепима общими полосами поглощения являются валентные колебания связанной  $\text{NH}_2$  в интервале частот 3197,0 – 3056,9  $\text{см}^{-1}$ , колебания  $\text{CH}_2$  (1471,2 – 1447,3  $\text{см}^{-1}$ ). Показана возможность их идентификации по электронным и колебательным спектрам.

Таблица 1 – Результаты определения некоторых цефалоспоринов спектрофотометрическим методом в смеси диметилсульфоксид-вода (5:5) ( $n=6$ ,  $P=0,95$ )

Навеска, г	Оптическая плотность	Найдено		Метрологические характеристики
		г	%	
<b>Цефтриаксон (275,0 нм)</b>				
0,0256	0,756	0,0259	101,25	$\bar{x} = 100,17$ $S = 0,888$ $S_{\bar{x}} = 0,363$ $S_r = 0,886$ $\Delta \bar{x} = 0,932$ $\varepsilon = 0,93 \%$
0,0246	0,728	0,0245	99,86	
0,0262	0,772	0,0260	99,52	
0,0245	0,726	0,0246	100,40	
0,0256	0,756	0,0259	101,03	
0,0246	0,728	0,0243	98,96	
<b>Цефпиром (270,2 нм)</b>				
0,0253	0,829	0,0254	100,32	$\bar{x} = 99,93$ $S = 0,895$
0,0245	0,804	0,0248	101,27	

0,0243	0,798	0,0242	99,83	$S_{x^-} = 0,365$ $S_r = 0,895$ $\Delta x^- = 0,939$ $\varepsilon^- = 0,94\%$
0,0256	0,839	0,0255	99,51	
0,0254	0,832	0,0250	98,57	
0,0266	0,870	0,0266	100,06	
Цефепим (263,8 нм)				
0,0263	0,738	0,0262	99,63	$\bar{x} = 99,94$ $S = 0,704$ $S_{x^-} = 0,288$ $S_r = 0,705$ $\Delta x^- = 0,739$ $\varepsilon^- = 0,74\%$
0,0256	0,718	0,0256	100,08	
0,0242	0,677	0,0243	100,35	
0,0256	0,718	0,0259	101,05	
0,0262	0,735	0,0259	99,14	
0,0259	0,727	0,0257	99,37	

**Хроматографические методы анализа.** В качестве хроматографических методов применяли нормальнофазовую и обращеннофазовую хроматографию в тонком слое сорбента (НФ-ТСХ и ОФ-ТСХ), обращеннофазовую высокоэффективную жидкостную хроматографию (ОФ-ВЭЖХ) и обращеннофазовую жидкостную макроколоночную (препаративную) хроматографию низкого давления (ОФ-Кл).

Хроматографирование методом НФ-ТСХ проводили на пластинах «Сорбфил УФ-254» (сорбент – СТХ-1ВЭ), «Silufol UV-254» (сорбент – широкопористый силикагель по Питри), ОФ-ТСХ (модель привитой алкильной фазы C14-C15 на силикагеле СТХ-1ВЭ). Использованы моно-, би- и многокомпонентные подвижные фазы.

Для всех подвижных фаз рассчитаны показатели хроматографической подвижности. Оптимальные условия хроматографирования методом ТСХ представлены в табл. 2. Как видно из табл. 2, предлагаемые хроматографические системы позволяют разделить и идентифицировать анализируемые вещества.

Таблица 2 – Абсолютная ( $R_f$ ) и относительная ( $R_s$ ) хроматографическая подвижность цефтриаксона, цефепима и цефпиroma в оптимальных элюентах.

Система растворителей	Соотношение компонентов по объему	Цефотаксим (внутр.ст.)	Цефтриаксон		Цефепим		Цефпиром	
		$R_f$	$R_f$	$R_s$	$R_f$	$R_s$	$R_f$	$R_s$
Нормальнофазовая ТСХ								
Ацетон – вода	(8:2)	0,88	0,70	0,80	-	-	-	-
Ацетон – вода	(6:4)	0,92	-	-	0,62	0,67	0,61	0,66
Обращеннофазовая ТСХ								
Буферный раствор pH=2,87 - ацетонитрил	(8:2)	0,80	0,56	0,70	0,41	0,52	0,31	0,39

Оптимальные результаты хроматографирования методом ОФ-ВЭЖХ (колонок Zorbax SB-C18 размером 250 мм × 4,6 мм, заполненная обращеннофазовым сорбентом с

размером частиц 5 мкм, производства Agilent Technology) достигаются при использовании подвижной фазы состава: фосфатный буферный раствор рН=3-метанол-ацетонитрил (8:1:1); температура колонки – 25 °С; УФ-детектирование для цефтриаксона – 254 нм, для цефепима – 254 нм и для цефпиром – 270 нм, объем вводимой пробы – 10 мкл, скорость потока – 1 мл/мин.

Таблица 3 – Результаты определения некоторых цефалоспоринов методом обращеннофазовой ВЭЖХ в смеси фосфатный буферный раствор рН=3-метанол-ацетонитрил (8:1:1); (n=6, P=0,95)

Навеска, г	Площадь пика на хроматограмме	Найдено		Метрологические характеристики
		г	%	
Цефтриаксон (254,0 нм)				
0,0254	1162,314	0,0255	100,25	$\bar{x} = 100,07$ $S = 0,385$ $S_{\bar{x}} = 0,157$ $S_r = 0,385$ $\Delta\bar{x} = 0,404$ $\varepsilon = 0,40\%$
0,0248	1136,315	0,0247	99,51	
0,0250	1144,981	0,0252	100,68	
0,0249	1140,648	0,0249	99,95	
0,0250	1144,981	0,0250	100,00	
0,0250	1144,981	0,0250	100,00	
Цефпиром (270,0 нм)				
0,0263	1744,201	0,0266	101,25	$\bar{x} = 100,17$ $S = 0,561$ $S_{\bar{x}} = 0,229$ $S_r = 0,560$ $\Delta\bar{x} = 0,589$ $\varepsilon = 0,59\%$
0,0254	1684,283	0,0254	100,11	
0,0248	1644,338	0,0248	99,83	
0,0254	1684,283	0,0254	100,03	
0,0248	1644,338	0,0247	99,65	
0,0257	1704,256	0,0257	100,17	
Цефепим (254,0 нм)				
0,0254	1491,510	0,0257	101,24	$\bar{x} = 100,80$ $S = 0,646$ $S_{\bar{x}} = 0,264$ $S_r = 0,641$ $\Delta\bar{x} = 0,678$ $\varepsilon = 0,67\%$
0,0252	1479,706	0,0255	101,17	
0,0242	1420,687	0,0242	99,97	
0,0256	1503,313	0,0259	101,23	
0,0255	1497,411	0,0258	101,24	
0,0248	1456,098	0,0248	99,97	

Как видно из табл. 3, разработанные методики количественного анализа исследуемых соединений методом ВЭЖХ достаточно воспроизводимы и правильны. Относительная ошибка среднего результата не более 0,67 %.

Оптимальной при хроматографировании (ОФ-Кл). в колонке обращеннофазового сорбента (Silasorb C8) мобильной фазой для всех изучаемых лекарственных соединений является подвижная фаза имеющая состав ацетон-вода (5:5).

**Очистка анализируемых веществ.** Рассмотрена возможность использования хроматографии в тонких слоях и колонке сорбента для очистки исследуемых веществ.

По результатам изучения хроматографической подвижности предложено несколько различных вариантов схем очистки анализируемых соединений. Результаты исследований представлены в табл. 4. Потери изучаемых веществ при очистке хроматографическими методами не превышают 0,4 %.

Таблица 4 – Результаты количественного определения изучаемых веществ в элюатах методом УФ-спектрофотометрии (n=6, P=0,95).

Сорбент	Метод	Элюент	Найдено вещества, %				
			$\bar{x}$	S	S $\bar{x}$	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$
<b>Цефтриаксон</b>							
СТХ-1ВЭ	Тонкий слой	1 – ацетон 2 – ацетон-вода (8:2)	99,71	1,25	0,51	1,31	1,32
Обращеннофазовый СТХ-1ВЭ	Тонкий слой	Ацетон-вода (8:2)	99,60	1,16	0,48	1,22	1,23
Силикагель Silasorb C <sub>8</sub>	Колонка	Ацетон-вода (5:5)	99,75	1,43	0,58	1,50	1,50
<b>Цефепим</b>							
СТХ-1ВЭ	Тонкий слой	1 – ацетон 2 – ацетон-вода (6:4)	99,73	1,21	0,49	1,27	1,27
Обращеннофазовый СТХ-1ВЭ	Тонкий слой	Ацетон-вода (8:2)	99,65	1,20	0,49	1,25	1,26
Силикагель Silasorb C <sub>8</sub>	Колонка	Ацетон-вода (5:5)	99,79	1,35	0,55	1,42	1,42
<b>Цефпиром</b>							
СТХ-1ВЭ	Тонкий слой	1 – ацетон 2 – ацетон-вода (6:4)	99,74	1,45	0,59	1,52	1,53
Обращеннофазовый СТХ-1ВЭ	Тонкий слой	Ацетон-вода (8:2)	99,63	1,37	0,56	1,44	1,44
Силикагель Silasorb C <sub>8</sub>	Колонка	Ацетон-вода (5:5)	99,81	1,65	0,67	1,73	1,73

**Изолирование объектов исследования.** Определен характер извлечения аналитов из биоматериала различными изолирующими агентами, в т. ч. их смесями. Результаты представлены в табл. 5.

Таблица 5 – Практические результаты извлечения цефтриаксона, цефепима и цефпирома из биологического материала (n=5; P=0,95).

Изолирующий агент	Найдено, %					
	Цефтриаксона		Цефепима		Цефпирома	
	$\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$	$\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$	$\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$
Ацетон	72,18	4,28	70,31	4,87	70,95	5,05
Метанол	75,46	4,67	68,87	4,66	75,83	5,40
Этанол	58,62	7,35	63,93	6,47	62,38	5,82
Ацетонитрил	41,28	5,34	20,04	6,09	37,14	9,22
1,4-Диоксан	59,88	6,05	64,82	5,19	63,32	5,66
Вода дистиллированная	25,79	5,23	34,84	8,81	39,30	10,59
8 % раствор уксусной кислоты	37,22	9,50	37,63	10,80	35,69	10,35
Уксусная кислота	55,39	8,90	53,82	8,70	50,82	9,76
Ангидрид уксусной кислоты	66,72	11,76	65,09	13,32	65,55	11,94

0,1 н. р-р натрия гидроксида	27,73	6,47	28,23	6,65	30,24	8,88
Диметилсульфоксид	50,09	5,23	45,78	6,40	39,15	6,62
Диметилформамид	49,92	4,01	50,84	4,21	53,68	5,07
Диметилсульфоксид-вода (5:5)	65,77	5,67	62,43	5,53	61,60	6,68
Метанол-вода (5:5)	82,50	7,42	82,76	7,07	85,79	8,62
Диметилсульфоксид-вода (8:2)	81,69	6,32	74,16	5,92	78,43	6,29
Метанол-вода (8:2)	84,81	5,12	72,32	6,05	69,95	5,09
Ацетонитрил-вода (5:5)	87,99	5,14	72,05	5,43	71,35	5,67
Ацетон-вода (5:5)	73,01	3,12	73,30	3,12	69,45	3,25

Приемлемым по всем критериям изолирующим компонентом для цефтриаксона, цефепима и цефпиромы является изолирующая смесь состава ацетон-вода (5:5). Процент выхода изолирования для цефтриаксона составил 73,01%, для цефепима – 73,30% и для цефпиромы – 69,45%, ошибка полученных результатов является минимальной и не превышает 3,3 %.

Исследована зависимость степени извлечения аналитов из биоматериала от соотношения изолирующего агента и биоматрицы, продолжительности и кратности настаивания. Оптимальные условия изолирования: двукратное настаивание не менее 30 минут, массовое соотношение «ацетон-вода (5:5)-биоматериал» – не менее 2:1.

Разработаны методики экспресс-анализа образцов мочи, плазмы крови, печени и крови на присутствие в них цефтриаксона, цефепима и цефпиромы.

**Валидация методики количественного определения цефтриаксона, цефепима и цефпиромы извлеченных из биологического материала.** Проведена валидация методик определения аналитов с использованием обращеннофазовой ВЭЖХ, результаты представлены в табл. 6.

Таблица 6 – Валидационные параметры методик на основе обращеннофазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии

Параметр		Критерий приемлемости	Результат
<b>Специфичность</b>		На хроматограмме растворителя и контрольных образцов должны отсутствовать пики, по времени удерживания, соответствующие пикам анализируемых веществ.	На хроматограмме растворителя и контрольных образцов отсутствуют пики, по времени удерживания, соответствующие пикам анализируемых веществ.
<b>Линейность</b>		Коэффициент корреляции (r) не менее 0,990	Коэффициент корреляции (r) более 0,9999
<b>Правильность</b>		Не более $\pm 20\%$	Не более $\pm 10\%$
<b>Предел обнаружения (ПО)</b>	Цефтриаксон	Должен быть 62,5 мкг/г или ниже	50,0 мкг/г
	Цефепим	Должен быть 125,0 мкг/г или	100,0 мкг/г

	Цефпиром	ниже	
<b>Предел количественного определения (ПКО)</b>	Цефтриаксон	Должен быть 62,5 мкг/г или ниже	62,5 мкг/г
	Цефепим	Должен быть 125,0 мкг/г или ниже	125,0 мкг/г
	Цефпиром		
<b>Прецизионность</b>		CV не более 20 %	Не более 10 %
<b>Степень извлечения</b>		Не менее 50%	Более 70 %

Как видно из данных табл. 6, разработанные методики количественного определения цефтриаксона, цефепима и цефпирома в биологических объектах методом обращеннофазовой ВЭЖХ являются приемлемыми по рассмотренным валидационным параметрам.

### **Получение эритроцитарных носителей с включенными антибиотиками.**

Разработали методику получения эритроцитарных носителей с включенными антибактериальными средствами. Включение исследуемых лекарственных соединений в эритроцитарные носители осуществлялось методом гипоосмотического гемолиза.

Провели количественное определение содержания исследуемых веществ в эритроцитарных носителях и в инкубационной жидкости. Для этого использовали растворы аналитов в концентрациях 25, 50, 100, 125 мг/мл, время инкубации: 15, 30, 60 и 75 минут. Результаты представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Содержание исследуемых веществ в эритроцитарных носителях и инкубационной жидкости

Антибиотик	Время инкубации, мин	Исходная концентрация, мг/мл	Найдено вещества в эритроцитарных носителях, %	Найдено вещества в инкубационной жидкости, %
Цефтриаксон	15	25	15,24	83,76
		50	17,39	81,61
		100	22,31	76,69
		125	23,87	75,13
	30	25	20,45	78,55
		50	26,56	70,51
		100	27,62	69,29
		125	28,14	70,86
	60	25	24,39	74,61
		50	28,91	68,16
		100	30,87	67,06
		125	30,88	68,12
	75	25	24,41	74,59
		50	28,95	70,05
		100	30,85	68,15
		125	30,87	68,13
Цефепим	15	25	13,25	85,75
		50	15,69	83,31

		100	21,41	77,59	
		125	22,45	76,55	
	30	25	17,01	81,99	
		50	22,28	76,24	
		100	23,39	75,34	
		125	24,53	74,47	
	60	25	22,12	76,88	
		50	26,70	72,93	
		100	26,98	72,28	
		125	27,01	71,99	
	75	25	22,41	76,59	
		50	26,70	72,32	
		100	27,01	71,99	
		125	27,02	71,98	
	Цефпиром	15	25	10,12	88,88
			50	12,36	86,64
100			18,44	80,56	
125			20,86	78,14	
30		25	17,35	81,65	
		50	19,19	80,33	
		100	20,93	78,90	
		125	21,95	77,05	
60		25	18,98	80,02	
		50	22,75	76,77	
		100	23,02	75,64	
		125	23,02	75,98	
75		25	19,00	80,01	
		50	22,79	76,21	
		100	23,03	75,97	
		125	23,03	75,97	

Исходя полученных данных было сделано заключение о том, что время продолжительности инкубации значительно не оказывает влияния на степень включения цефтриаксона, цефепима и цефпирома в эритроцитарные носители, но при заметном увеличении концентрации увеличивалось и содержание данных лекарственных препаратов. Приемлемым временем продолжительности инкубации для всех исследуемых препаратов было выбрано 60 минут, а приемлемым уровнем исходной концентрации для цефтриаксона, цефепима и цефпирома – 100 мг/мл.

**Особенности распределения исследуемых цефалоспоринов.** Изучено распределение исследуемых веществ в организме здоровых мышей. Мышам массой 25-35 г (5 групп по 5 особей в каждой) внутривенно вводили полуметальные дозы (для цефтриаксона  $LD_{50} = 1900$  мг/кг, для цефепима  $LD_{50} = 2000$  мг/кг и для цефпирома  $LD_{50} = 2400$  мг/кг) анализируемых соединений. Испытание продолжали после истечения 2 часов с момента введения анализируемого лекарственного средства. Исследуемых животных



умерщвляли путем ингаляционного воздействия диоксидом углерода в установке для эвтаназии АЕ0904. Одинаковые органы и биожидкости объединяли внутри каждой группы и определяли в них анализируемые вещества. Результаты данного исследования представлены на рис. 1.

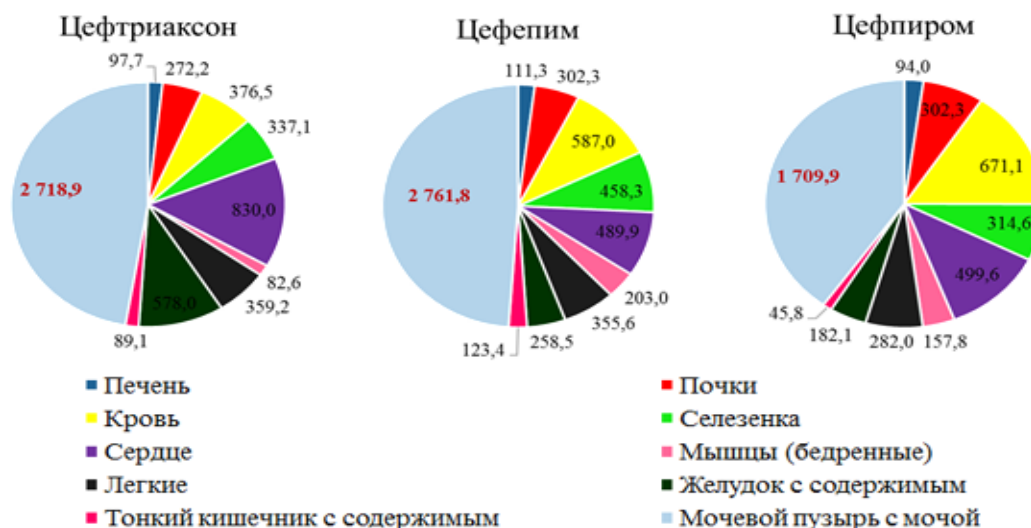


Рисунок 1 – Распределение исследуемых веществ в организме здоровых мышей, мг в 100 г биологического объекта.

Провели изучение распределения исследуемых веществ в организме мышей с моделированным токсическим поражением почек, вызванным  $\text{HgCl}_2$ . Предварительно, за 48 часов до начала эксперимента, моделировали токсическое поражение почек путем однократного внутрижелудочного введения ртути дихлорида в дозе 2 мг/кг. Далее проводили испытание по вышеуказанной схеме. Результаты данного исследования представлены на рис. 2.

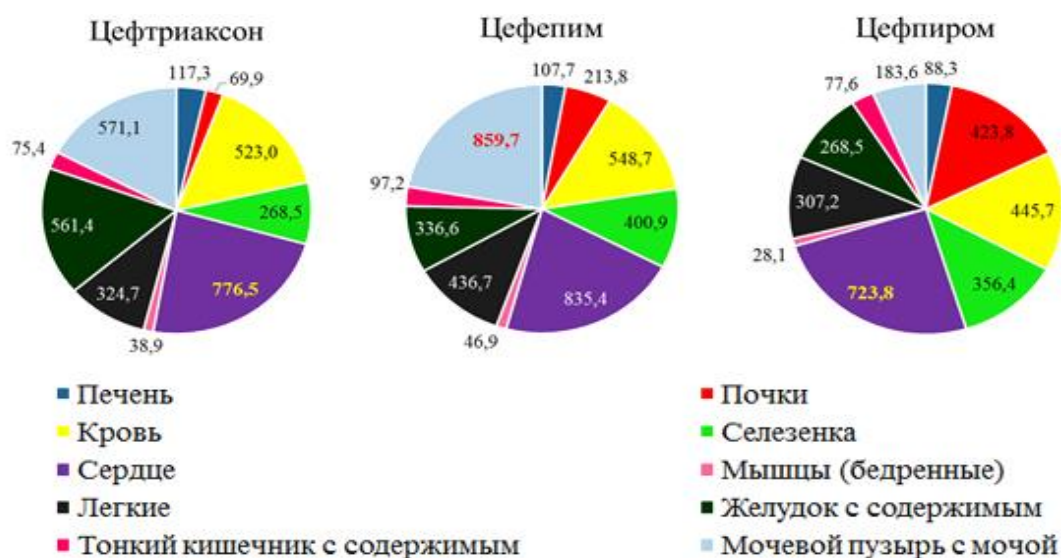


Рисунок 2 – Распределение исследуемых веществ в организме мышей с токсическим поражением почек, мг в 100 г биологического объекта

Провели изучение распределения исследуемых веществ в организме здоровых мышей и с моделированным токсическим поражением почек, вызванным  $\text{HgCl}_2$  с введенными эритроцитарными носителями. Результаты исследования представлены на рис. 3-4.

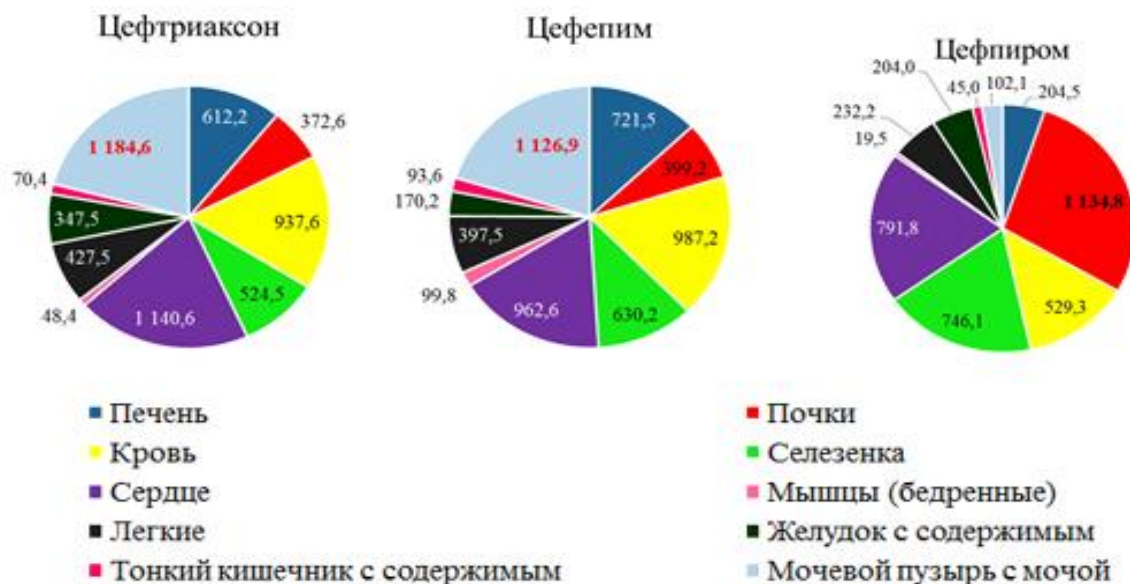


Рисунок 3 – Распределение исследуемых веществ в организме здоровых мышей с введенными эритроцитарными носителями, мг в 100 г биологического объекта

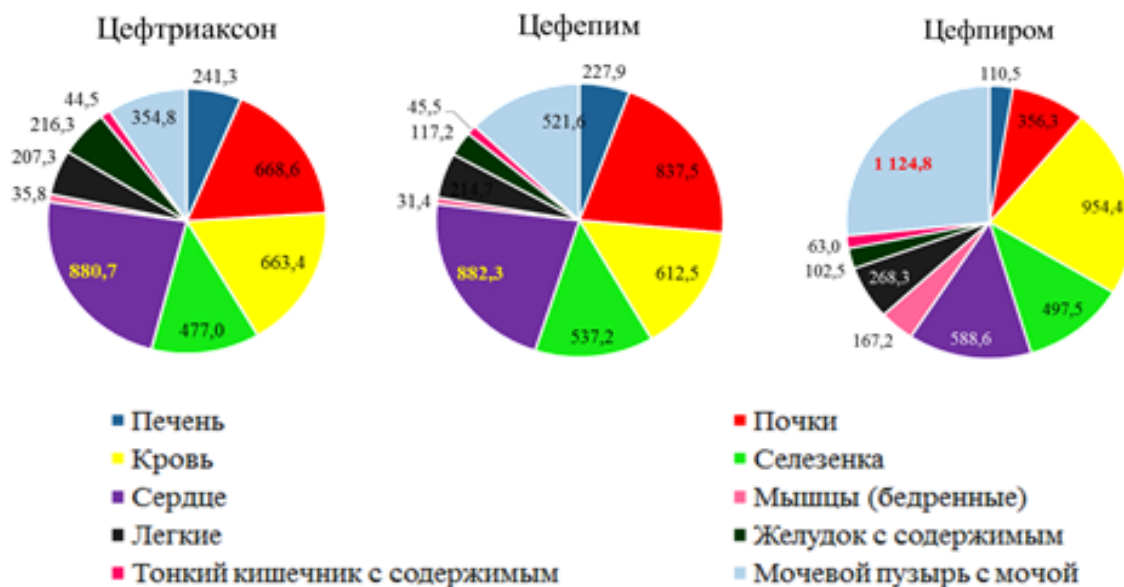


Рисунок 4 – Распределение исследуемых веществ в организме мышей с токсическим поражением почек с введенными эритроцитарными носителями, мг в 100 г биологического объекта

Было выявлено присутствие рассматриваемых веществ в неизменном виде в органах и биожидкостях испытуемых животных. Как видно из полученных данных, наибольшая концентрация цефтриаксона, цефепима и цефпирома через 2 часа после

внутривенного введения группе здоровых мышей в свободном виде наблюдалась в мочевом пузыре с мочой, а у испытуемой группы с моделированным токсическим поражением почек максимальная концентрация наблюдалась в сердце и крови.

При введении исследуемого препарата, включенного в эритроцитарные носители, пиковая концентрация препаратов у группы здоровых мышей была обнаружена в сердце и мочевом пузыре с мочой, а в группе животных с моделированным токсическим поражением почек максимум концентрации наблюдался в сердце и крови.

Можно сделать вывод о том, что при заболеваниях почек замедляется процесс выведения данных лекарственных препаратов, однако направленный транспорт анализируемых антибиотиков в эритроцитарных носителях позволяет доставить наибольшее количество антибиотика в очаг заболевания.

**Изучение сохраняемости исследуемых цефалоспоринов.** Сохраняемость анализируемых лекарственных соединений изучалась в четырех различных температурных условиях: -12 °С, 2 °С, 8 °С и 22 °С. При сохранении модельных смесей в выбранных температурных режимах рассматриваемые соединения могут быть определены в трупном материале по крайней мере в течение 113 дней с момента начала эксперимента. Наиболее устойчивым соединением в трупном материале является цефпиром. Его можно обнаружить до 170-190 дней после начала эксперимента в зависимости от температурного режима. Наименьшая стабильность наблюдается у цефтриаксона, так его можно обнаружить на 113-160 день после начала эксперимента в зависимости от выбранного режима проведения анализа.

## **ОБЩИЕ ВЫВОДЫ**

1. Рассмотрены особенности спектров исследуемых веществ в ультрафиолетовой и инфракрасной областях спектра. Определены точки экстремума цефтриаксона, цефепима и цефпирома в растворителях различной химической природы. Выявлена оптимальная среда растворения для изучаемых лекарственных препаратов – диметилсульфоксид-вода (5:5).

2. Изучено хроматографическое поведение цефтриаксона, цефепима и цефпирома в тонких слоях нормальнофазового и обращеннофазового сорбента, а также при использовании обращеннофазовой макроколоночной жидкостной хроматографии с применением низкого давления.

Показано, что оптимальной подвижной фазой для нормальнофазовой ТСХ для цефтриаксона – ацетон-вода (8:2), а для цефепима и цефпирона – ацетон-вода (6:4). Для обращеннофазовой ТСХ для всех анализируемых веществ оптимальной подвижной фазой является – буферный раствор pH 2,87-ацетонитрил (8:2). В качестве подвижной фазы при использовании обращеннофазовой макроколоночной жидкостной хроматографии с применением низкого давления доказано целесообразное использование мобильной фазы состава ацетон-вода (5:5).

3. Разработана современная методика идентификации и количественного определения цефтриаксона, цефепима и цефпирона методом обращеннофазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. Проведена процедура валидации предложенной методики по стандартным параметрам валидации.

4. Исследованы особенности изолирования цефтриаксона, цефепима и цефпирона из материала биологического происхождения. В качестве приемлемых условий изолирования для всех анализируемых веществ были подобраны следующие условия: изолирующий агент – ацетон-вода (5:5), время настаивания – 30 минут, кратность настаивания – двукратно, количество изолирующего агента – в два раза превышает биологический материал.

В качестве очистки вытяжек находят обоснованное использование метод обращеннофазовой макроколоночной жидкостной хроматографии с применением низкого давления.

5. Разработана методика получения эритроцитарных носителей. Установлено оптимальное время инкубации эритроцитарных носителей с исследуемыми лекарственными препаратами – 60 минут, а концентрации лекарственных препаратов – 100 мг/мл. Для очистки применяли разработанную схему методом нормальнофазовой ТСХ, а количественное определение проводили методом УФ-спектрофотометрии в среде диметилсульфоксид-вода (5:5).

6. Исследована особенность распределения цефтриаксона, цефепима и цефпирона в организме теплокровных животных при различных технологиях введения. Было определено, что наибольшая концентрация исследуемого препарата, через 2 часа после внутривенного введения группе здоровых мышей в свободном виде, наблюдалась в мочевом пузыре с мочой, а у испытываемой группы с моделированным токсическим поражением почек максимальная концентрация наблюдалась в сердце и крови. При

введении исследуемого препарата, включенного в эритроцитарные носители, пиковая концентрация препаратов у группы здоровых мышей была обнаружена в сердце и мочевом пузыре с мочой, а в группе животных с моделированным токсическим поражением почек максимум концентрации наблюдался в сердце и крови. Это объясняется тем, что при наличии почечной патологии снижается скорость выведения данных лекарственных препаратов.

7. Исследованы особенности сохранения цефтриаксона, цефепима и цефпиром в трупном материале при различном температурном режиме хранения  $-12^{\circ}\text{C}$ ,  $2^{\circ}\text{C}$ ,  $8^{\circ}\text{C}$  и  $22^{\circ}\text{C}$ . Все исследуемые соединения при всех изученных температурах можно обнаружить в течении 1/3 года. Продолжительность сохранности увеличивается в линии цефтриаксон-цефепим-цефпиром.

**Практические рекомендации.** В настоящее время зарегистрированы случаи летального исхода от аллергической реакции немедленного типа на антибактериальные препараты из группы цефалоспоринов. Однако методики для современного определения исследуемых веществ в судебно-медицинской экспертизе отсутствуют. Из этого следует, что методики, разработанные в данном диссертационном труде, можно применять в работе бюро судебно-медицинской экспертизы, что имеет огромное практическое значение для работы данных организаций.

**Перспективы дальнейшей разработки темы.** Интересным для продолжения исследования остается вопрос разработки и применения методики введения антибактериальных препаратов в эритроцитарных носителях в организм человека с целью снижения аллергического воздействия и увеличения концентрации в очаге воспаления.

#### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. **Безъязычная, А. А.** Определение цефепима в биологическом материале методом электронной спектрофотометрии // Биотехнология и биомедицинская инженерия : сб. науч. тр. по материалам X Всерос. науч.-практич. конф. с междунар. участием, посвящ. 25-летию биотехнол. фак. и 20-летию каф. биол. и хим. технологии. – Курск, 2017. – С. 375–377.

2. **Безъязычная, А. А.** Определение цефтриаксона в биологическом материале / **А. А. Безъязычная, В. К. Шорманов, Л. Е. Сипливая** // **Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье».** – 2018. – № 1. – С. 128–132.

3. **Безъязычная, А. А.** Особенности изолирования цефтриаксона из биологического материала / А. А. Безъязычная, В. К. Шорманов, Л. Е. Сипливая // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств : материалы 7-й Междунар. науч.-метод. конф. "Фармообразование-2018" / Воронеж. гос. ун-т. – Воронеж, 2018. – С. 376–379.

4. **Безъязычная, А. А.** Сохраняемость некоторых антибактериальных препаратов из группы цефалоспоринов в биологическом материале / **А. А. Безъязычная**, В. К. Шорманов, Л. Е. Сипливая // **Вестн. Воронеж. гос. ун-та. Сер.: Химия. Биология. Фармация.** – 2018. – № 1. – С. 213–218.

5. Идентификация цефтриаксона методом электронной спектрофотометрии / В. К. Шорманов, Л. Е. Сипливая, **А. А. Безъязычная**, Д. А. Герасимов // Биотехнология и биомедицинская инженерия : сб. материалов IX Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – Курск : КГМУ, 2016. – С. 78–80.

6. Спектрофотометрическое определение цефтриаксона по поглощению в среде ацетонитрил-вода (8:2) / В. К. Шорманов, Л. Е. Сипливая, **А. А. Безъязычная**, Д. А. Герасимов // Биотехнология и биомедицинская инженерия : сб. материалов IX Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – Курск : КГМУ, 2016. – С. 81–84.

7. Особенности идентификации цефпинома методом ИК-спектроскопии / **А. А. Безъязычная**, В. К. Шорманов, Л. Е. Сипливая // Новшества в медицине и фармакологии: сборник научных трудов по итогам II международной научно-практической конференции. – Тюмень, 2018. – С. 23-26.

8. **Безъязычная, А.А.** Идентификация некоторых цефалоспоринов методом хроматографии в тонком слое сорбента // Молодежная наука и современность: материалы 82-й Всерос. науч. конф. студентов и молодых ученых с международным участием посвященной 82-летию КГМУ (19-20 апр. 2017 г.) : в 3 ч. – Курск : Изд-во КГМУ, 2017. – Ч. 2. – С. 310.

9. Выбор оптимального времени изолирования / **А.А. Безъязычная**, А.М. Маркелова // Молодежная наука и современность: материалы 83-й Всерос. науч. конф. студентов и молодых ученых с международным участием посвященной 83-летию КГМУ и 85-летию со дня рождения член-корреспондента РАМН профессора А.В. Завьялова (18-19 апр. 2018 г.); в 3 ч. – Курск: Изд-во КГМУ, 2018. –Ч. 2. – С. 260.

10. **Безъязычная, А. А.** Разработка лабораторной технологии получения клеточной (эритроцитарной) формы цефтриаксона и экспериментальное обоснование целесообразности ее использования при необструктивном пиелонефрите / О.И. Братчиков, Г.В. Сипливый, В.Ю. Ипатов, **А.А. Безъязычная**, А.В. Кукурека, Л.Е. Сипливая // **Экспериментальная и клиническая урология.** – 2019. – № 2. – С. 34–38.

11. **Безъязычная, А.А.** Оптимизация процедуры изолирования цефепима из биологического материала / А.А. Безъязычная, В.К. Шорманов, Л.Е. Сипливая // **Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения.** – 2019. – №3. – С. 173–176.

### **СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ**

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;

ДМСО – диметилсульфоксид;

ДМФА – диметилформамид;

ИК – инфракрасный;

НД – нормативный документ;

НФ-ТСХ – нормальнофазовая тонкослойная хроматография;

ОФ-ВЭЖХ – обращеннофазовая высокоэффективная жидкостная хроматография;

ОФ-ТСХ – обращеннофазовая тонкослойная хроматография;

ТСХ – тонкослойная хроматография;

УФ – ультрафиолетовый.

***Безъязычная Антонина Александровна (Россия)***

***Разработка методик анализа некоторых цефалоспоринов в традиционных и иммобилизованных формах и биологических объектах***

*Проведено химико-фармацевтическое исследование цефтриаксона, цефепима и цефпиромы в традиционных и иммобилизованных формах и биологических объектах. Разработаны методики определения подлинности и количественного содержания исследуемых препаратов в традиционных и иммобилизованных формах и в биологических объектах, а также методики очистки и концентрирования анализируемых проб.*

*Определены оптимальные условия изолирования цефтриаксона, цефепима и цефпиромы из биологического материала. Проведена валидация методики определения количественного содержания анализируемых препаратов, изолированных из биологических объектов, методом обращеннофазовой ВЭЖХ. Разработана методика*

получения эритроцитарных носителей и методика включения в них цефтриаксона, цефепима и цефпирома. Изучены особенности распределения и сохраняемости цефтриаксона, цефепима и цефпирома в организме мышей.

***Bezyazychnaya Antonina Aleksandrovna (Russia)***

***Development of analysis methods for some cephalosporins in traditional and immobilized forms and biological objects***

*Chemical and pharmaceutical studies of ceftriaxone, cefepime and ceftiofime in traditional and immobilized forms and biological objects have been carried out. Methods have been developed for determining the authenticity and quantitative content of the studied drugs in traditional and immobilized forms and in biological objects, as well as methods for the purification and concentration of the analyzed samples.*

*The optimal conditions for the isolation of ceftriaxone, cefepime and ceftiofime from biological material were determined. The validation of the methodology for determining the quantitative content of the analyzed drugs isolated from biological objects by the method of reverse-phase HPLC was carried out. A technique has been developed for the production of erythrocyte carriers and a technique for incorporating ceftriaxone, cefepime and ceftiofime into them. The features of the distribution and preservation of ceftriaxone, cefepime and ceftiofime in the body of mice were studied.*